

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОБОСНОВАНИЮ НОРМАТИВОВ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ВОД И ПОЧВЫ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ НА БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ *Danio rerio*

Н. В. Зайцева, М. А. Землянова, Д. М. Каменских , Е. В. Пескова

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Пермь, Россия

В настоящее время загрязнение объектов среды обитания химическими веществами представляет собой одну из значимых гигиенических проблем. В условиях интенсификации и модернизации дорожно-транспортного комплекса и промышленного производства актуальным является развитие методологии гигиенического нормирования, основанной на экспериментальных исследованиях. Традиционное использование в качестве биологической модели мелких грызунов (крыс, мышей) имеет ряд этических, методологических и экономических ограничений, что обуславливает необходимость поиска и внедрения альтернативных биологических моделей в исследовательскую практику. Целью работы было обосновать унифицированный методический подход к установлению нормативов качества и безопасности различных видов вод, кроме технической, и почвы населенных мест на биологической модели *Danio rerio* (Hamilton, 1822). Представленная методика, интегрирующая существующие международные и национальные стандарты, подтверждает возможность применения *D. rerio* в качестве валидной и высокоинформативной тест-системы в биомедицинских исследованиях. Подход предполагает оперативное (1–1,5 месяца), достоверное, финансово малозатратное, гуманное получение результатов, что необходимо для научного обоснования критериев безопасности и гигиенического нормирования.

Ключевые слова: нормирование, безопасность, химические вещества, вода, почва, *Danio rerio*, острая токсичность, хроническая токсичность, отдаленные эффекты

Вклад авторов: Н. В. Зайцева — концепция, дизайн исследования; М. А. Землянова — дизайн исследования, редактирование текста статьи; Д. М. Каменских, Е. В. Пескова — написание текста статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Дарья Михайловна Каменских
ул. Монастырская, д. 82, г. Пермь, 614045, Россия; teterina@fcrisk.ru

Статья получена: 10.07.2026 **Статья принята к печати:** 07.08.2026 **Опубликована онлайн:** 07.09.2026

DOI: 10.24075/rbh.2026.171

Авторские права: © 2026 принадлежат авторам. Лицензиат: РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

METHODOLOGICAL APPROACHES TO SUBSTANTIATING QUALITY AND SAFETY STANDARDS FOR VARIOUS TYPES OF WATER AND SOIL IN POPULATED AREAS USING THE *DANIO RERIO* BIOLOGICAL MODEL

Zaitseva NV, Zemlyanova MA, Kamenskikh DM , Peskova EV

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, Russia

Today, environmental pollution with chemicals represents one urgent hygienic problem. In the context of intensification and modernization of the road transport complex and industrial production the development of methodology for hygienic rationing based on experimental research is relevant. The conventional use of small rodents (rats, mice) as biological models has a number of ethical, methodological and economic limitations, which necessitates the search for and implementation of alternative biological models in research practice. Our aim was to substantiate a unified methodological approach to establishing quality and safety standards for various types of water, except for technical water, and soil in populated areas using the *Danio rerio* (Hamilton, 1822) biological model. The reported method integrating existing international and national standards, confirms the possibility of using *D. rerio* as a valid and highly informative test system in biomedical research. The approach assumes prompt (1–1.5 months), reliable, cost-effective, humane yielding of results, which is necessary for the scientific substantiation of safety criteria and hygienic standards.

Keywords: rationing, safety, chemicals, water, soil, *Danio rerio*, acute toxicity, chronic toxicity, long-term effects

Author contribution: Zaitseva NV — study concept and design; Zemlyanova MA — study design, manuscript editing; Kamenskikh DM, Peskova EV — manuscript writing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Daria M. Kamenskikh
Monastyrskaya, 82, Perm, 614045, Russia; teterina@fcrisk.ru

Received: 10.07.2026 **Accepted:** 07.08.2026 **Published online:** 07.09.2026

DOI: 10.24075/rbh.2026.171

Copyright: © 2026 by the authors. Licensee: Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Проблема гигиенического нормирования новых химических соединений

Загрязнение объектов среды обитания (воды, почвы, атмосферного воздуха) представляет собой одну из значимых гигиенических проблем. Интенсификация и модернизация дорожно-транспортного комплекса, а также расширение промышленного производства обуславливают поступление в объекты среды обитания новых химических соединений в составе компонентов выбросов и сбросов. Для большинства

таких веществ отсутствуют экспериментально верифицированные предельно допустимые концентрации (ПДК) и референтные дозы хронического перорального поступления (RfD). Реально присутствующие в объектах среды обитания новые поллютанты могут отрицательно влиять на здоровье экспонируемого населения. В связи с этим обоснование нормативов качества (ПДК) и безопасности (RfD) новых химических соединений является важным аспектом обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Обоснование ПДК и RfD новых веществ базируется на строго регламентированных подходах к экспериментальным исследованиям, учитывающих острые, хронические и отдаленные эффекты действия токсикантов. Данный подход позволяет определить общие закономерности токсичности соединений, специфические проявления при длительном воздействии, установить наименьшую эффективную (LOEC) и неэффективную концентрацию (NOEC). Традиционно такие исследования проводят с применением в качестве биологических моделей теплокровных животных, включая мелких грызунов (крысы, мыши) [1, 2]. Несмотря на доказанную эффективность и широкое применение в научных исследованиях, их использование сопряжено с рядом ограничений. Этический аспект сводится к необходимости обоснования размера выборки и соответствия требованиям гуманности исследований, обусловленной проведением инвазивных процедур, хирургических вмешательств и пролонгированного болевого воздействия на лабораторных животных. Существенную сложность представляет экстраполяция данных, полученных в экспериментах на мелких грызунах, на организм человека, связанная с выраженными межвидовыми метаболическими и анатомо-физиологическими различиями. Дополнительным ограничением являются значительные затраты на содержание лабораторных животных в условиях специализированных вивариев. Указанные сложности подчеркивают необходимость поиска и внедрения в исследовательскую практику валидной и высокоинформативной биологической модели, характеризующейся высоким уровнем генетической и физиологической гомологии с человеком, экономической доступностью и соответствием этическим требованиям. В данном контексте тропическую пресноводную рыбу *Danio rerio* (Hamilton, 1822) рассматривают как один из наиболее перспективных модельных организмов благодаря совокупности биологических, генетических и методологических преимуществ. Полное секвенирование генома *D. rerio* выявило значительное сходство его генетической структуры с человеческой: 70% генов человека имеют ортологи у *D. rerio* и 82% генов *D. rerio* ассоциированы с заболеваниями человека, что обуславливает сопоставимость ключевых биохимических и физиологических процессов [3–5]. Доступность проведения разноплановых экспериментальных исследований в рамках единой биологической системы обеспечивает дифференцированную оценку различных видов токсических эффектов (летальных и сублетальных). При тестировании на биологической модели *D. rerio* действия токсикантов существует возможность моделирования условий реальной комплексной экспозиции, обусловленной поступлением веществ из объектов среды обитания (вода, почва, воздух). Этот подход отражает одновременное поступление химических веществ в организм человека тремя путями: пероральным, чрескожным и ингаляционным. Сходство метаболического профиля взрослых особей *D. rerio* и человека (способность абсорбировать, окислять и экскретировать метаболиты токсикантов) обуславливает возможность эффективной экстраполяции результатов на организм человека [6, 7]. Наряду с биологическими и генетическими преимуществами, применение *D. rerio* в экспериментах в полной мере соответствует положениям концепции 3R (Replacement — замена, Reduction — сокращение, Refinement — усовершенствование), являющимся

фундаментальными при проведении экспериментальных исследований [8]. Замена теплокровных животных (мелких грызунов) на рыб позволяет значительно уменьшить объем экспериментов на млекопитающих, что одновременно уменьшает этическую нагрузку на исследования и снижает материально-технические затраты, связанные с приобретением, содержанием и утилизацией лабораторных особей. Высокая репродуктивная способность и быстрый жизненный цикл обеспечивают высокую статистическую значимость и оперативность получения результатов (1–1,5 месяца), обеспечивая соблюдение принципа сокращения [9]. Принцип усовершенствования реализуется через оптимизацию методик и условий эксперимента, направленную на минимизацию или полное исключение болевых и стрессовых воздействий. Экстракорпоральное развитие и оптическая прозрачность эмбрионов *D. rerio* обеспечивают возможность неинвазивного мониторинга морфогенеза в реальном времени, а введение химических веществ осуществляется простым добавлением в водную среду, что исключает инъекционные манипуляции [10, 11].

Модель *D. rerio* является высокочувствительным и методически доступным инструментом для изучения токсичности новых химических веществ как в остром, так и в хроническом экспериментах, что обуславливает ее значимость для современных гигиенических исследований [12–14]. Применение *D. rerio* в экспериментах регламентируется международными руководствами (OECD) и национальными стандартами (ГОСТ). Они унифицируют ключевые параметры тестирования, такие как продолжительность экспозиции, контролируемые условия среды, стадии развития рыб и критерии оценки исходов. При этом отсутствует единая этапная методология исследования, так как существующие подходы к нормированию используют различные экспериментальные протоколы, что может приводить к расхождению результатов, снижению объективности и качества обоснования ПДК и RfD.

Целью работы было представить научно-методическое обоснование единого интегрального подхода к установлению предельно допустимых концентраций и референтных доз хронического перорального поступления химических веществ на биологической модели *D. rerio*.

Концепция интегрального методического подхода к обоснованию нормативов качества и безопасности новых химических соединений

Интегральный методический подход к обоснованию нормативов качества и безопасности различных видов вод и почвы на биологической модели *D. rerio* представляет собой многоуровневый алгоритм. В его рамках последовательно реализуют подготовительный этап, проводят экспериментальные исследования, предполагающие определение параметров острой, хронической токсичности, а также отсроченных эффектов, в том числе тератогенных, мутагенных и репротоксических при длительной экспозиции, установление наименьшей эффективной (LOEC) и неэффективной (NOEC) концентраций для *D. rerio* для обоснования ПДК химических веществ в воде и почве и RfD для человека при хроническом пероральном поступлении (рис.).

Интегральный методический подход к установлению ПДК и RfD основывается на международных методиках и национальных стандартах: ГОСТ 32428—2013 [15], ГОСТ 32473—2013 [16], ГОСТ 32538—2013 [17], ГОСТ 32541—2013 [18], ГОСТ 33774—2016 [19], ГОСТ 32368—2013

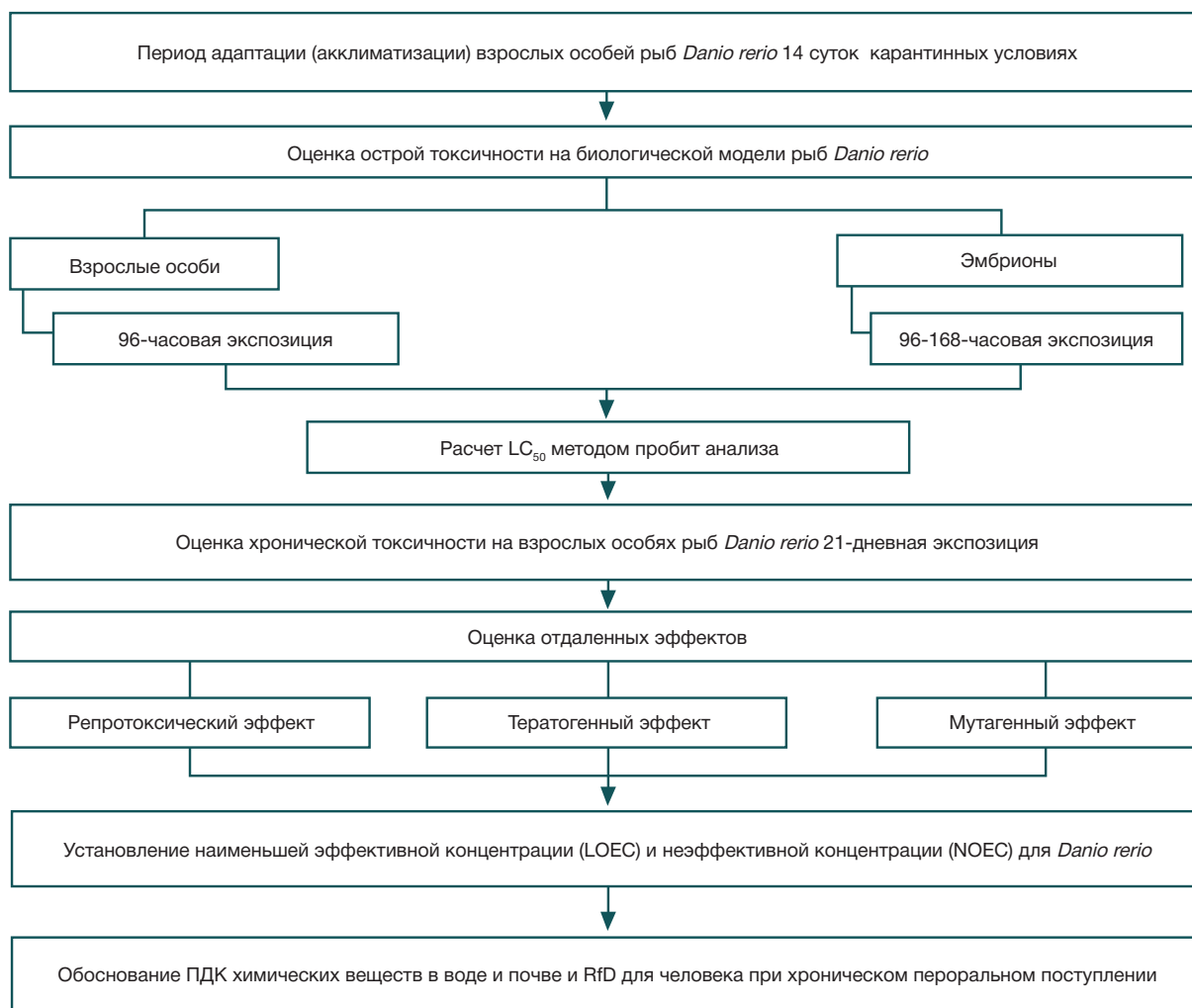


Рис. Интегральный методический подход к обоснованию нормативов качества и безопасности различных видов вод и почвы населенных мест на биологической модели *Danio rerio*

[20], OECD Test Guideline No. 229 [21], OECD Test Guideline No. 425 [22], OECD Test Guideline No. 203 [23], OECD Test Guideline No. 236 [11], OECD Test Guideline No. 210 [24].

Подготовку проб (воды, почвы) реализуют в соответствии с положениями действующих национальных стандартов. Образцы почвы отбирают в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01—83 [25] и ГОСТ 17.4.4.02—84 [26] в зависимости от изучаемого вещества. При выделении химических веществ из почвы применяются стандартизированные экстракционные процедуры (например, получение водных вытяжек или экстракция органическими растворителями) [27]. При этом критически важными параметрами являются соотношение твердой и жидкой фаз, продолжительность и температурный режим экстракции. Отбор проб воды проводится в соответствии с ГОСТ Р 59024—2020 [28], регламентирующим локализацию точек отбора с учетом гидрологических характеристик водоема или водотока и потенциального влияния источников загрязнения. Выделение изучаемых химических веществ из водной среды реализуют с применением сорбционных (например, твердофазной экстракции) либо жидкостно-жидкостных экстракционных методик, подбор которых определяется концентрационным уровнем. Особое внимание уделяют предотвращению потерь летучих соединений за счет контроля температурного режима.

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований выполняют с учетом характера

распределения массива данных, оцененного с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При соответствии случайных величин анализируемых показателей нормальному закону распределения используют параметрические статистические методы с расчетом следующих характеристик: среднее значение (M); ошибка репрезентативности (m), t -критерий Стьюдента при оценке статистической значимости межгрупповых различий ($p \leq 0,05$), критерий Фишера ($F > 3,96$) при оценке разницы дисперсий и коэффициент детерминации (R^2).

Моделирование и оценка острой токсичности на разных стадиях онтогенеза *Danio rerio*

Единый интегральный подход реализуют с подготовительного этапа. Рыб *D. rerio* содержат в карантинных условиях в течение 14 дней, на протяжении которых осуществляют ежедневный контроль гидрохимических параметров воды и состояния здоровья лабораторных животных в соответствии с ГОСТ 32473—2013 [16]. По окончании 14 дней проводят рандомизированный отбор здоровых половозрелых особей для формирования репрезентативных выборок, обеспечивающих статистическую значимость результатов. Критериями включения служат отсутствие внешних признаков заболеваний (повреждения плавников, помутнения роговицы, изменения окраски, ерошения чешуи), адекватная реакция на внешние раздражители

и отсутствие аномалий двигательной активности. Такой отбор обеспечивает минимизацию ложноположительных результатов, связанных с исходной неоднородностью экспериментальных групп.

После завершения периода адаптации реализуют первый этап исследования, согласно стандартизированным протоколам (OECD Test Guideline No. 203 [23] и ГОСТ 32473—2013 [16]). Исследование продолжается в течение 96 часов (взрослые особи и эмбрионы) с пролонгацией до 168 ч (для эмбрионов) для определения острых токсических эффектов. Выбор исследуемых концентраций веществ регламентирован указанными стандартами и основан на тестировании для определения диапазона концентраций. Он необходим для идентификации порога чувствительности и максимально возможной концентрации вещества при его однократном введении с целью исключения развития негативных эффектов, обусловленных неспецифическими факторами. При получении соответствующего диапазона экспозиция проводится с использованием как минимум пяти концентраций, составляющих геометрическую прогрессию со знаменателем не более 2,2.

Взрослые особи подвергаются действию токсикантов в полустатистическом режиме при контролируемых условиях в соответствии с ГОСТ 32473—2013 [16]. Регистрацию исходов осуществляют визуально через 3, 6, 24, 48, 72 и 96 ч от начала эксперимента. Фиксируют число погибших особей, время наступления гибели, визуально наблюдаемые аномалии поведения и признаки интоксикации. Достоверность полученных результатов подтверждается низким уровнем смертности в контрольной группе (менее 10%), соблюдением постоянных условий эксперимента и поддержанием оптимальных исследуемых концентраций на протяжении всего периода экспозиции в соответствии с ГОСТ 32473—2013 [16].

Источником эмбрионов, необходимых для оценки острой токсичности химических веществ, служит интактное родительское стадо. Процедура проведения нереста соответствует ГОСТ 32541—2013 [18]. Полученную икру обрабатывают раствором метиленового синего для профилактики грибкового и бактериального заражения. Затем проводят визуальный контроль для оценки качества икры и удаления неоплодотворенных и поврежденных экземпляров. Критерии отбора жизнеспособной оплодотворенной икры соответствуют ГОСТ 33774—2016 [19] и включают в себя прозрачность хориона, наличие перивителлинового пространства между стенкой икры и эмбрионом, начало дробления (стадия 4–64 бластомеров) и отсутствие признаков коагуляции. Согласно указанному стандарту, жизнеспособную икру на стадии раннего дробления переносят пластиковыми стерильными пипетками в 24-луночные планшеты для культивирования и распределения на экспериментальные группы.

Диапазон тестируемых концентраций определяется OECD Test Guideline No. 236 [11]. Проводят предварительное тестирование для обоснования диапазона концентраций, аналогичное таковому при оценке острой токсичности на взрослых особях *D. rerio*.

Оценку гибели эмбрионов осуществляют ежедневно в одно и то же время (каждые 24 ч) с помощью инвертированного микроскопа. Показатели регистрируют в абсолютных и относительных единицах по наличию коагуляции эмбриона, неотделению хвостовой части от желточного мешка, отсутствию формирования сомитов и сердцебиения. Обнаружение любого из перечисленных

признаков свидетельствует о гибели эмбриона. Дополнительно, начиная с 48 ч экспозиции, регистрируют уровень вылупления (количество свободноплавающих личинок) в экспериментальных группах. Результаты эксперимента считают достоверными при условии, что общий уровень оплодотворенной икры в партии составляет не менее 70%, уровень вылупления и выживаемость эмбрионов в отрицательном контроле по окончании 96-часовой экспозиции превышает 80%, температура при инкубации планшетов поддерживается на уровне 26 ± 1 °C, pH тестируемых растворов находится в пределах $7,5 \pm 0,5$ в соответствии с ГОСТ 33774—2016 [19]. Углубленную оценку токсического действия химических соединений на ранних стадиях онтогенеза *D. rerio* выполняют в условиях пролонгированного острого эксперимента (до 168 ч) в соответствии с методическими рекомендациями по оценке токсичности на ранней стадии жизни рыб [19]. Данный подход позволяет зарегистрировать острые летальные и сублетальные (отсроченные) эффекты у эмбрионов, предличинок и личинок (стадия перехода к экзогенному питанию и активному плаванию).

По завершении экспозиции на основе результатов оценки зависимости «концентрация-эффект (летальность)» выполняют расчет средней смертельной концентрации (LC_{50}) для взрослых особей и эмбрионов методом пробит-анализа [29], что позволяет обосновать выбор концентраций для последующих экспериментов по оценке хронической токсичности. В случае отсутствия летальности в качестве значения LC_{50} принимают наибольшую протестированную концентрацию.

Моделирование и оценка хронической токсичности и отдаленных последствий действия химических веществ

Оценку хронической токсичности реализуют в рамках второго этапа исследования. Концентрации тестируемых веществ определяют на основании полученных значений средней смертельной концентрации (LC_{50}). В соответствии с ГОСТ 32538—2013 [17] выбирают как минимум две концентрации исследуемых веществ, составляющие $1/100 LC_{50}$ и $1/1000 LC_{50}$. Рыбы *D. rerio* подвергаются 21-дневной экспозиции в соответствии с методическими рекомендациями [30] с учетом видоспецифичных особенностей *D. rerio* и ГОСТ 32428—2013 [15]. Каждые 24 ч от начала эксперимента проводят наблюдение за состоянием рыб с регистрацией показателей, регламентированных государственным стандартом. Фиксируют число погибших особей, время наступления гибели, визуально наблюдаемые аномалии поведения и признаки интоксикации.

Оценка отдаленных последствий действия токсикантов заключается в исследовании репротоксических, мутагенных и тератогенных эффектов. Выбор тестируемых концентраций аналогичен таковому при оценке хронической токсичности.

Исследование токсического действия соединений на репродуктивный потенциал рыб проводят в соответствии с регламентированной методикой [21]. Оценка основывается на качественных и количественных показателях функционального состояния репродуктивной функции *D. rerio* согласно ГОСТ 32368—2013 [20].

Количественные показатели оцениваются после проведения нереста. Процедура нереста и обработки икры соответствует требованиям ГОСТ 32541—2013

[18]. После сбора икры проводят визуальный осмотр для контроля качества и подсчет общего количества оплодотворенных и неоплодотворенных экземпляров в абсолютных и относительных единицах (абс./%). Критериями жизнеспособной оплодотворенной икры служат прозрачность хориона, наличие перивителлинового пространства между стенкой икры и эмбрионом, начало дробления (стадия 4–64 бластомеров) и отсутствие признаков коагуляции. Неоплодотворенные и поврежденные экземпляры после подсчета удаляют.

Жизнеспособную икру используют для оценки тератогенного действия в соответствии с OECD Test Guideline No. 236 [11], ГОСТ 33774—2016 [19] и ГОСТ 32541—2013 [18]. Продолжительность исследования составляет 168 ч (7 суток), эмбрионы и личинки не подвергаются негативному воздействию.

Каждые 24 ч с помощью инвертированного микроскопа регистрируют летальные эффекты по критериям, указанным в ГОСТ 33774—2016 [19] и ГОСТ 32541—2013 [18]: коагуляцию (опалесценцию, помутнение) эмбриона, отсутствие формирования сомитов (нарушение сегментации), неотделение хвостовой части от желточного мешка, отсутствие сердцебиения. Обнаружение любого из перечисленных признаков свидетельствует о гибели эмбриона. Дополнительно, начиная с 48 ч экспозиции, регистрируют уровень вылупления (количество свободноплавающих личинок). Сублетальные эффекты, свидетельствующие о наличии тератогенного эффекта, оценивают по следующим критериям: наличие деформации хорды и хвостового отдела; задержка вылупления (начиная с 48 ч); ранняя постэмбриональная (после вылупления) летальность; образование постэмбриональных отеков. Дополнительно оценивают наличие у конкретных эмбрионов комбинаций морфологических аномалий. Критериями нормального развития предличинки контрольной группы являются полная или практически полная резорбция желточного мешка, наполненность плавательного пузыря, активная локомоция, отсутствие признаков дистресса.

Результаты эксперимента считают достоверными при соблюдении условий валидности: общий уровень оплодотворения в собранной партии икры составляет не менее 70%, а выживаемость эмбрионов и уровень вылупления в отрицательном контроле по окончании 96-часовой экспозиции — не менее 80%.

После завершения 96-часового периода регистрации летальных эффектов наблюдения за выжившими предличинками пролонгируют до 168 ч (7 суток) в соответствии с ГОСТ 32541—2013. Метод позволяет комплексно оценить летальные и сублетальные эффекты. Условия содержания остаются неизменными. Летальные эффекты оценивают ежедневно (каждые 24 ч) с помощью инвертированного микроскопа по вышеописанным критериям. Оценку тератогенных эффектов завершают по достижении 168 ч (7 суток).

После проведения нереста рыб подвергают эвтаназии для дальнейшей оценки морфологических изменений. В соответствии с международными рекомендациями по эвтаназии лабораторных животных применяемые способы должны обеспечивать быструю и необратимую смерть с минимизацией болевых ощущений и психоэмоционального стресса у животных [31]. В связи с этим используют анестезирующее вещество — эвгенол (гвоздичное масло), — предварительно растворенное в 96%-м этиловом спирте в объемном соотношении 1 : 9

(1 см³ эвгенола на 9 см³ спирта). Полученный раствор вносят в воду постепенно (1 см³ каждые 10 минут) до достижения глубокой анестезии. Критериями наступления гибели служат остановка двигательной активности жаберной крышки и отсутствие реакции на внешние раздражители. После рыб осушают фильтровальной бумагой, взвешивают с точностью до 0,1 г. Полученные образцы маркируют. Проводят анализ гонадальной гистопатологии (выявление структурных нарушений в тканях яичников и семенников). Подготовку гистологических препаратов осуществляют традиционными методами.

Исследование и оценку мутагенного эффекта химических веществ проводят с помощью микроядерного теста в соответствии с Руководством (международным стандартом) ISO 21427-1:2006 [32], являющимся общепринятой методологией для оценки генотоксичности водной среды, в том числе с использованием рыб в качестве тест-объектов. После 21-дневной экспозиции особи рыб подвергают эвтаназии вышеуказанным способом. Кровь отбирают из хвостовой артерии путем ампуляции хвостового стебля дистальнее анального плавника. Одну каплю крови (5–10 мкл) немедленно наносят на чистое обезжиренное предметное стекло и распределяют ровным слоем. Мазки фиксируют и высушивают на воздухе при комнатной температуре. Фиксированные мазки окрашивают по методу Май–Грюнвальда–Гимза. В каждой мазке проводят микроскопию эритроцитов с использованием иммерсионного объектива.

На основании результатов оценки хронической токсичности устанавливают наименьшую эффективную концентрацию (LOEC) и неэффективную концентрацию (NOEC) химических веществ. Эти параметры используют для последующего обоснования ПДК в воде и почве и RfD для человека при хроническом пероральном поступлении.

Преимущества внедрения интегрального подхода в практику гигиенического нормирования

Представленная методика, интегрирующая в единый алгоритм существующие подходы к оценке острой и хронической токсичности на биологической модели *D. rerio*, позволяет использовать разные стадии развития модельного организма (взрослые особи и эмбрионы). Методически это отличается от аналогичной работы [33], в которой токсические свойства оценивали только на эмбриональной стадии. Одновременное использование модельных организмов на разных этапах развития позволяет реализовать комплексный подход к изучению патогенетических механизмов негативного действия изучаемых химических веществ и подтвердить гигиеническую гипотезу о специфической чувствительности живых систем в зависимости от стадии развития [13, 14].

С гигиенической точки зрения критически важным этапом является пролонгация экспозиционного периода до 168 ч. Данный шаг позволяет зафиксировать отсроченные негативные эффекты токсикантов, не выявляемые в рамках стандартного 96-часового биотестирования. Этот факт полностью согласуется с выводами, что сокращенные протоколы токсикологических испытаний могут существенно недооценивать реальную опасность соединений, с высоким кумулятивным потенциалом [34]. Представленная поэтапная схема позволяет повысить точность и объективность устанавливаемых доз и недействующих концентраций новых химических

веществ при хроническом пероральном поступлении в организм человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе рассмотрено применение пресноводной рыбы *Danio rerio* (Hamilton, 1822) в качестве высокоинформативного, валидного модельного организма при проведении экспериментальных исследований для обоснования

нормативов качества и безопасности различных видов вод, кроме технической, и почвы населенных мест. Интегральный подход, реализующий краткосрочные и долгосрочные исследования в едином дизайне эксперимента, позволяет с высокой степенью достоверности устанавливать количественные параметры, необходимые для расчетов предельно допустимых концентраций и референтных доз хронического перорального поступления химических соединений в организм человека

Литература

1. Гайдай Е. А., Гайдай Д. С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля. Лабораторные животные для научных исследований. 2019; (4): 78–85. DOI: 10.29296/2618723X-2019-04-09.
2. Rydell-Törmänen K, Johnson JR. The applicability of mouse models to the study of human disease. *Methods Mol Biol.* 2019; 1940: 3–22. DOI: 10.1007/978-1-4939-9086-3_1.
3. Качанов Д. А., Лакеев Н. М., Левикин К. Е., Блаженко А. А., Лапкина Г. Я., Багатурия Г. О. и др. *Danio rerio* (zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях. *Forcipse.* 2018; 1 (1): 49–54.
4. Лашенкова Л. И., Перфилова В. Н., Снигур Г. Л., Калугин А. В. Использование рыб зебраданио (*Zebrafish*) в качестве модельных объектов для изучения возраст-ассоциированных заболеваний (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований.* 2025; 11 (1): 120–41. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-1-0-7.
5. Lepanto P, Zolessi FR, Badano JL. Studying human genetic variation in zebrafish. In: *Cellular and animal models in human genomics research.* Elsevier, 2019; 89–117.
6. de Souza Anselmo C, Sardela VF, Matias BF, de Carvalho AR, de Sousa VP, Pereira HMG, et al. Is zebrafish (*Danio rerio*) a tool for human-like metabolism study? *Drug Test Anal.* 2017; 9 (11-12):1685–94. DOI: 10.1002/dta.2318.
7. Prado E, Matos RR, de Lima G, Geovana M, de Sã CBL, da Costa N, et al. Metabolism of synthetic cathinones through the zebrafish water tank model: a promising tool for forensic toxicology laboratories. *Forensic Toxicol.* 2021; 73–88. DOI: 10.1007/s11419-020-00543-w.
8. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. Wheathampstead (UK): Universities Federation for Animal Welfare, 1959 (as reprinted 1992).
9. Mitchell B, Chernick M, Rittschof D, Jayasundara N. Embryonic exposure to irgarol impacts development and larval and juvenile swimming in zebrafish (*Danio rerio*). *Biofouling.* 2026; 42 (2): 122–35. DOI: 10.1080/08927014.2025.2595131.
10. Hoo JY, Kumari Y, Shaikh MF, Hue SM, Goh BH. Zebrafish: A versatile animal model for fertility research. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 1–2.
11. OECD, Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264203709-en.
12. Полистовская П. А., Карпенко Л. Ю., Махнин И. А., Ажикина О. Ю. Дехорионизация эмбрионов *Danio rerio* для оценки острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. *Международный вестник ветеринарии.* 2024; (1): 99–105. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.9.
13. Зуб А. В., Загребин В. Л., Дворяшина И. А., Терентьев А. В. Возможность использования биологической модели пресноводной рыбы Данио Рерио в доклинических исследованиях. *Вестник ВолГМУ.* 2020; 1 (73): 10–13. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-10-13.
14. Parnig C, Seng WL, Semino C, McGrath P. Zebrafish: a preclinical model for drug screening. *Assay Drug Dev Technol.* 2002; (1): 41–8.
15. ГОСТ 32428–2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение хронической токсичности для рыб: 14-дневный тест: межгосударственный стандарт».
16. ГОСТ 32473–2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для рыб: межгосударственный стандарт».
17. ГОСТ 32538—2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение биоконцентрации на рыбах в проточных аквариумах: межгосударственный стандарт».
18. ГОСТ 32541—2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Краткосрочное испытание токсичности на эмбрионах и предличинках рыб: межгосударственный стандарт».
19. ГОСТ 33774—2016 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Острая токсичность для эмбрионов рыбы: межгосударственный стандарт».
20. ГОСТ 32368—2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Оценка репродуктивной способности рыб: межгосударственный стандарт».
21. OECD, Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay. OECD Publishing, Paris, 2009. DOI: 10.1787/9789264076211-en.
22. OECD, Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. OECD Publishing, Paris, 2022. DOI: 10.1787/9789264071049-en.
23. OECD, Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264069961-en.
24. OECD, Test No. 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264203785-en.
25. ГОСТ 17.4.3.01—83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб: межгосударственный стандарт».
26. ГОСТ 17.4.4.02—84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа: межгосударственный стандарт».
27. ФР 1.39.2007.03221 «Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний: методика выполнения измерений».
28. ГОСТ Р 59024—2020 «Вода. Общие требования к отбору проб: национальный стандарт Российской Федерации».
29. Finney DJ. Probit analysis (2nd ed). *J Inst Actuar.* 1952; 78 (3): 388–90. DOI: 10.1017/S0020268100052938.
30. OECD, Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 1984. DOI: 10.1787/9789264069985-en.

31. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association, 2020; 121 p.
32. ISO International Standard. Water quality—Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei—Part 1: Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae. ISO 21427-1, ICS: 13.060.70. Genova—CH, 2006.
33. Nilén G, Obamwonyi OS, Liem-Nguyen V, Engwall M, Larsson M, Keiter SH. Observed and predicted embryotoxic and teratogenic

effects of organic and inorganic environmental pollutants and their mixtures in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat Toxicol*. 2022; 248: 106175. DOI: 10.1016/j.aquatox.2022.106175.

34. Perrichon P, Le Bihanic F, Bustamante P, Le Menach K, Budzinski H, Cachot J, et al. Influence of sediment composition on PAH toxicity using zebrafish (*Danio rerio*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo-larval assays. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014; 21 (24): 13703–19. DOI: 10.1007/s11356-014-3502-7.

References

1. Gajdaj EA, Gajdaj DS. Geneticheskoe raznoobrazie eksperimental'nykh myshey I kryz: istoriya vozniknoveniya, sposoby polucheniya i kontrolya. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*. 2019; (4): 78–85 (in Rus.). DOI: 10.29296/2618723X-2019-04-09.
2. Rydell-Törmänen K, Johnson JR. The applicability of mouse models to the study of human disease. *Methods Mol Biol*. 2019; 1940: 3–22. DOI: 10.1007/978-1-4939-9086-3_1.
3. Kachanov DA, Lakeenkov NM, Levikin KE, Blazhenko AA, Lapkina gYa, Bagaturiya GO, et al. *Danio rerio* (zebrafish) kak universal'nyy model'nyy ob"ekt v doklinicheskikh issledovaniyakh. *Forcipe*. 2018; 1 (1): 49–54 (in Rus.).
4. Lashchenova LI, Perfilova VN, Snigur GL, Kaluev AV. Ispol'zovanie ryb zebraudanio (Zebrafish) v kachestve model'nykh ob"ektov dlya izucheniya vozrast-assotsirovannykh zabolevaniy (obzor). *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskikh issledovaniy*. 2025; 11 (1): 120–41 (in Rus.). DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-1-0-7.
5. Lepanto P, Zolessi FR, Badano JL. Studying human genetic variation in zebrafish. In: *Cellular and animal models in human genomics research*. Elsevier, 2019; 89–117.
6. de Souza Anselmo C, Sardela VF, Matias BF, de Carvalho AR, de Sousa VP, Pereira HMG, et al. Is zebrafish (*Danio rerio*) a tool for human-like metabolism study? *Drug Test Anal*. 2017; 9 (11-12): 1685–94. DOI: 10.1002/dta.2318.
7. Prado E, Matos RR, de Lima G, Geovana M, de Sã CBL, da Costa N, et al. Metabolism of synthetic cathinones through the zebrafish water tank model: a promising tool for forensic toxicology laboratories. *Forensic Toxicol*. 2021; 73–88. DOI: 10.1007/s11419-020-00543-w.
8. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. *Wheatthampstead (UK): Universities Federation for Animal Welfare*, 1959 (as reprinted 1992).
9. Mitchell B, Chernick M, Rittschof D, Jayasundara N. Embryonic exposure to irgarol impacts development and larval and juvenile swimming in zebrafish (*Danio rerio*). *Biofouling*. 2026; 42 (2): 122–35. DOI: 10.1080/08927014.2025.2595131.
10. Hoo JY, Kumari Y, Shaikh MF, Hue SM, Goh BH. Zebrafish: A versatile animal model for fertility research. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 1–2.
11. OECD, Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264203709-en.
12. Polistovskaya PA, Karpenko IYu, Makhnin IA, Azhikina O. Yu. Dekhorionizatsiya embrionov *Danio rerio* dlya otsenki ostroj toksichnosti organomineral'nykh khelatnykh kompleksov. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2024; (1): 99–105 (in Rus.). DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.9.
13. Zub AV, Zagrebin VL, Dvoryashina IA, Terentev AV. Vozmozhnost' ispol'zovaniya biologicheskoy modeli presnovodnoj ryby *Danio Rerio* v doklinicheskikh issledovaniyakh. *Vestnik VolGМУ*. 2020; 1 (73): 10–13 (in Rus.). DOI: 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-10-13.
14. Parnig C, Seng WL, Semino C, McGrath P. Zebrafish: a preclinical model for drug screening. *Assay Drug Dev Technol*. 2002; (1): 41–8.
15. GOST 32428–2013 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Opredelenie khronicheskoy toksichnosti dlya ryb: 14-dnevnyy test: mezhgosudarstvennyy standart".
16. GOST 32473–2013 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Opredelenie ostroj toksichnosti dlya ryb: mezhgosudarstvennyy standart".
17. GOST 32538—2013 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Opredelenie biokonsentratsii na rybkakh v protochnykh akvariumakh: mezhgosudarstvennyy standart".
18. GOST 32541—2013 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Kratkosrochnoe ispytanie toksichnosti na embrionakh i predlichinkakh ryb: mezhgosudarstvennyy standart".
19. GOST 33774—2016 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Ostraya toksichnost' dlya embrionov ryb: mezhgosudarstvennyy standart".
20. GOST 32368—2013 "Metody ispytaniy khimicheskoy produktsii, predstavlyayushchej opasnost' dlya okruzhayushchej sredy. Otsenka reproduktivnoj sposobnosti ryb: mezhgosudarstvennyy standart".
21. OECD, Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay. OECD Publishing, Paris, 2009. DOI: 10.1787/9789264076211-en.
22. OECD, Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. OECD Publishing, Paris, 2022. DOI: 10.1787/9789264071049-en.
23. OECD, Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264069961-en.
24. OECD, Test No. 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 2025. DOI: 10.1787/9789264203785-en.
25. GOST 17.4.3.01—83 "Okhrana prirody. Pochvy. Obshchie trebovaniya k otboru prob: mezhgosudarstvennyy standart".
26. GOST 17.4.4.02—84 "Okhrana prirody. Pochvy. Metody otbora i podgotovki prob dlya khimicheskogo, bakteriologicheskogo, gel'mintologicheskogo analiza: mezhgosudarstvennyy standart".
27. FR1.39.2007.03221 "Biologicheskie metody kontrolya. Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochvy, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti tseriodafnij: metodika vypolneniya izmerenij".
28. GOST R 59024—2020 "Voda. Obshchie trebovaniya k otboru prob: natsional'nyy standart Rossijskoj Federatsii".
29. Finney DJ. Probit analysis (2nd ed). *J Inst Actuar*. 1952; 78 (3): 388–90. DOI: 10.1017/S0020268100052938.
30. OECD, Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 1984. DOI: 10.1787/9789264069985-en.
31. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association, 2020; 121 p.
32. ISO International Standard. Water quality—Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei—Part 1: Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae. ISO 21427-1, ICS: 13.060.70. Genova—CH, 2006.
33. Nilén G, Obamwonyi OS, Liem-Nguyen V, Engwall M, Larsson M, Keiter SH. Observed and predicted embryotoxic and teratogenic effects of organic and inorganic environmental pollutants and their mixtures in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat Toxicol*. 2022; 248: 106175. DOI: 10.1016/j.aquatox.2022.106175.
34. Perrichon P, Le Bihanic F, Bustamante P, Le Menach K, Budzinski H, Cachot J, et al. Influence of sediment composition on PAH toxicity using zebrafish (*Danio rerio*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo-larval assays. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014; 21 (24): 13703–19. DOI: 10.1007/s11356-014-3502-7.